Virusserologische Untersuchungen bei Patienten mit chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Wolfgang Klaer

Saarbrücken
1970

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Universität des Saarlandes
Direktor: Prof. Dr.med., Dr.phil. W. Zimmermann

Virusserologische Untersuchungen bei Patienten mit chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1970

vorgelegt von
Wolfgang Klaer
geb. am 28. Februar 1945 in Schierke/Harz

Dekan: Prof. Dr.med. G. Dhom
Referent: Prof. Dr.med. R. Wigand

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 31. März 1970 abgelegt.

Inhaltsübersicht

I. Einleitung 1
II. Literatur 3
III. Material und Methodik 11
IV. Ergebnisse des Hämagglutinationshemmungstests. . 27
V. Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion . . . 35
VI. Diskussion 51
VII. Zusammenfassung 60
VIII. Schrifttumsverzeichnis 62

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542726_0051

I. Einleitung

Als Erreger von Infektionen der unteren Luftwege ist eine Anzahl von Viren bekannt, so die verschiedenen Typen von Influenzaviren, von denen Typ A vorwiegend epidemisch, die anderen endemisch auftreten; die Parainfluenzaviren, die Erreger des kindlichen Krupps und grippeähnlicher Erkrankungen sind; das Respiratory Syncytial Virus, das bei Kindern ein breites Spektrum respiratorischer Erkrankungen, von einfacher Erkältung über Bronchitis bis zur Bronchopneumonie, hervorrufen kann und seltener auch bei Erwachsenen klinische Erscheinungen macht; die große Gruppe der Adenoviren, die ebenfalls eine Affinität zu den tieferen Atemwegen haben; schließlich die Rhinoviren, die bei Kindern eine Vielfalt respiratorischer Erkrankungen erzeugen können und bei Erwachsenen das Schnupfensyndrom hervorrufen, das mit einer Erkrankung der unteren Luftwege einhergehen kann. Das Mycoplasma pneumoniae, Erreger der primär atypischen Pneumonie, ist kein Virus, steht diesen jedoch nahe.

Die Fragestellung unserer Arbeit ist eine mehrfache. Zum ersten suchten wir mit serologischen Methoden innerhalb eines Kollektivs von Personen mit chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung (chronische Bronchitis, Asthma, Emphysem) nach Infektionen und untersuchten, inwieweit diese von klinischen Erscheinungen (fieberhaften Erkrankungen, Erkältungskrankheiten und Verschlechterung der bestehenden Erkrankung) begleitet wurden. Weiter wollten wir herausfinden, ob Patienten, die Antikörper gegen mehr Viren oder Virustypen besaßen, in

der Vergangenheit häufiger erkrankt waren als andere, die weniger Antikörper in ihrem Serum aufzuweisen hatten. Schließlich untersuchten wir die Frage, ob Antikörper gegen bestimmte Viren oder eine größere Zahl von Viren einen verstärkten Schutz gegen Erkrankungen in der Folgezeit verleihen. Mit Hilfe des Hämagglutinationshemmungstests suchten wir nach Infektionen durch die Adenoviren der Untergruppe II, weil diese vorwiegend bei Erwachsenen vorkommen, wie von Jung und Wigand (1) gezeigt wurde. Mit der Komplementbindungsreaktion wiesen wir Titeranstiege gegen Influenza A, A_2, B und C, Parainfluenza 1, 2 und 3, RS-Virus, Adenovirus, Reovirus und Mycoplasma pneumoniae nach.

II. Literatur

Zum Themenkreis "Virusinfektion und chronische Bronchitis" liegt eine Anzahl von Arbeiten vor. Teils wurde versucht, Virus zu isolieren, teils hat man serologische Untersuchungen durchgeführt.

Murdoch u.a. (2) untersuchten in Edinburgh Seren von 45 Patienten mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion. Jedem Patienten wurden in einem Abstand von 4 Monaten 2 Blutproben und jeweils nach grippaler Erkrankung zusätzliche Proben entnommen. Viermal wurden Titeranstiege gegen Influenza A, fünfmal gegen Influenza B, viermal gegen Influenza C und einmal gegen Adenovirus nachgewiesen. Von den Patienten mit Titeranstieg gegen Influenza A waren zwei, gegen Influenza C einer im Intervall zwischen den Serumentnahmen erkrankt, bei den übrigen verlief die Infektion inapparent. Zwei Patienten erkrankten, ohne daß eine Infektion nachgewiesen wurde.

Jack und Gandevia (3) beobachteten in Australien 19 Patienten über 12 Monate. Seren wurden vierteljährlich, bei Exazerbationen und drei Wochen danach entnommen. Mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion wurde nach Antikörpern gegen Influenza A und B und gegen Adenovirus gefahndet. Titeranstiege wurden nicht gefunden, in 10 Fällen waren stationäre Titer gegen Adenovirus vorhanden. Virusisolierungen aus Rachenspülflüssigkeit wurden versucht, jedoch ohne Erfolg.

Hennessy (4) versuchte in Michigan, bei 27 Patienten Virus aus dem Sputum zu züchten, was jedoch nicht gelang. Auf Exazerbationen zur Zeit der Gewinnung des Sputums wurde nicht geachtet.

Carilli u.a. (5) beobachteten in Washington D.C. 30 erkrankte Patienten und eine Kontrollgruppe von 10 gesunden Personen über sechs Monate. In monatlichen Intervallen und bei Exazerbationen wurde die Virusisolierung aus Rachenspülflüssigkeit und Sputum versucht und Blut zu serologischen Untersuchungen entnommen. Nach Antikörpern gegen Influenza A, A_2, B und C wurde mit dem Hämagglutinationshemmungstest, nach solchen gegen Adenovirus, RS-Virus, Psittakose, Q-Fieber, Parainfluenza 1, 2 und 3 mit der Komplementbindungsreaktion gesucht. Infektionen mit Mycoplasma pneumoniae wurden durch Nachweis von Streptococcus-MG-Agglutininen und von Kälteagglutininen verifiziert. Während der Beobachtungszeit traten bei den Patienten 46 akute respiratorische Erkrankungen auf. Dabei wurden serologisch acht Infektionen durch RS-Virus, je vier durch Mycoplasma pneumoniae und Influenza A_2, je zwei durch Q-Fieber, Adenovirus und Parainfluenza 3, und eine durch Psittakose nachgewiesen. Bei diesen 23 Fällen mit Titeranstieg gelang die Virusisolierung viermal, und zwar je einmal bei Infektion, RS-Virus und Adenovirus und zweimal bei Infektion durch Influenza A_2. Bei einem Patienten wurde ein Virus isoliert, aber nicht identifiziert, ein Titeranstieg wurde bei ihm nicht nachgewiesen. Bei diesen Untersuchungen wurde also bei 24 von 46 Fällen akuter respiratorischer Erkrankungen eine Infektion festgestellt.

Sommerville (6) berichtet über serologische Routineuntersuchungen bei Patienten aus Glasgow und Umgebung mit respiratorischen Infekten. Während der Erkrankung und in der Rekon-

valeszenz wurde je eine Blutprobe entnommen. Die Serenpaare wurden mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion auf Titeranstiege gegen Influenza A, B und C, Adenovirus, Psittakose, Q-Fieber und RS-Virus untersucht. Nur bei RS-Virus ergab sich ein Zusammenhang zwischen Infektion und Erkrankung. Von den 82 erwachsenen Patienten mit Titeranstieg gegen RS-Virus hatten 41 (50%) eine akute Exazerbation einer chronischen Bronchitis erlitten. Bei einer gesunden Kontrollgruppe, die 1000 Serenpaare umfaßte, wurden keine Titeranstiege beobachtet.

Stark u.a. (7) beobachteten 199 Patienten mit chronischer Bronchitis aus London und Umgebung über sechs Monate. Monatlich und nach respiratorischer Erkrankung wurde ein Serum entnommen und die Frage nach respiratorischen Erkrankungen oder Exazerbation der Bronchitis im vergangenen Monat gestellt. Mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion und der Hämagglutinationshemmung wurde nach Titeranstiegen gegen Influenza A und B und Parainfluenza 1, 2 und 3 gesucht. Bei 23 Patienten (11,5%) wurden so Virusinfekte nachgewiesen, bei 13 durch Influenza B, bei zwei durch Parainfluenza 1, bei sieben durch Parainfluenza 3 und bei einem Patienten durch Parainfluenza 1 und 2. Von diesen 23 Infektionen waren 13 mit einer Exazerbation der Bronchitis, vier mit einer Erkrankung der oberen Luftwege vergesellschaftet; die restlichen sechs verliefen asymptomatisch. Von den 13 Infektionen mit Influenza B waren neun mit bronchitischer Exazerbation, eine mit Erkrankung der oberen Luftwege vergesellschaftet, drei waren asymptomatisch.

Für die 10 Infektionen durch Parainfluenza betragen die Zahlen vier, drei und drei. Influenza B rief also vorwiegend bronchitische Exazerbationen hervor.

Ross u.a. (8) untersuchten in Glasgow Serenpaare zweier Patientengruppen. Die erste Gruppe umfaßte 146 Patienten. Seren wurden bei akuten Exazerbationen und in der Rekonvaleszenz entnommen. Den 86 Patienten der zweiten Gruppe wurde im Abstand von ca. sechs Monaten je ein Serum entnommen. Die Untersuchungen erstreckten sich auf komplementbindende Antikörper gegen Influenza A, B und C, Adenovirus, RS-Virus, Mycoplasma pneumoniae, Haemophilus influenzae, Q-Fieber und Parainfluenza 1. Im genannten Zeitraum traten 125 Exazerbationen auf. In 20 (16%) dieser Fälle wurden Titeranstiege festgestellt, und zwar siebenmal gegen Influenza A, je viermal gegen Influenza C und RS-Virus, je zweimal gegen Influenza B und Parainfluenza 1, in einem Fall gegen Adenovirus. Stationäre Antikörpertiter von mindestens 1 : 8 fanden sich gegen Influenza A in 77,5%, gegen Influenza B in 62,5%, Influenza C in 82,5%, gegen Adenovirus in 55,5%, gegen Psittakose in 18,5%, gegen Q-Fieber in 7,4%, gegen Haemophilus influenzae in 97,9%, gegen RS-Virus in 76,9%. Gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe fanden sich keine wesentlichen Unterschiede.

Eadie u.a. (9) beobachteten eine Gruppe von 15 Patienten aus Glasgow und Umgebung über einen Zeitraum von ein bis zweieinhalb Jahren. Blutproben wurden zu Anfang der Beobachtungszeit, zu Beginn und Ende des Winters und bei und nach respiratorischen Erkrankungen abgenommen. Im Verlaufe respiratorischer

Infekte wurden weiterhin Nasenspülwasser, ein Rachenabstrich sowie Sputum gewonnen. Im Verlaufe der Zeit traten bei den Bronchitikern 75 respiratorische Episoden auf. Davon waren 47 Exazerbationen, von diesen wieder 21 mit vorangehender Erkältung, sieben waren grippale Infekte, 21 Erkältungen ohne Exazerbation. Von letzteren wurde in einem Fall ein Rhinovirus isoliert; bei den Patienten, die eine Erkältung mit nachfolgender Exazerbation erlitten, wurde zehnmal Rhinovirus und einmal Herpes-simplex-Virus gezüchtet. Die Exazerbationen ohne Erkältung ergaben einmal ein Rhinovirus, die grippalen Infekte einmal Parainfluenza 1. Serologisch wurden mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion in einem Fall von Erkältung eine Infektion mit Influenza C, bei den reinen Exazerbationen in einem Fall mit Influenza A, in einem weiteren mit Influenza C festgestellt. Insgesamt wurden bei 21% der Erkrankungen Virusinfektionen nachgewiesen.

Moffat und Sutherland (10) beschrieben über 4 Jahre in Edinburgh laufende Beobachtungen an 20 Patienten. Achtwöchentlich abgenommene Seren wurden auf komplementbindende Antikörper gegen Influenza A, B und C, Sendai-Virus, Parainfluenza 1, 2 und 3, Adenovirus, Psittakose, Q-Fieber, Mumps und RS-Virus untersucht. Bei sechs Patienten wurden Titeranstiege beobachtet, bei zweien gegen Adenovirus, bei je einem gegen Influenza A, Influenza C, RS-Virus, bei einem Patienten fanden sich Titeranstiege gegen Influenza A und B. Von den 68 Exazerbationen waren drei (4,4%) mit Titeranstieg, und zwar gegen Influenza A, Influenza C, Influenza A und B verknüpft, ein

Titeranstieg gegen Adenovirus verlief mit einer Erkältungskrankheit, zwei Infektionen waren inapparent.

Lambert (11) untersuchte Seren von 1150 gesunden Personen und von 140 chronischen Bronchitikern aus Südengland auf komplementbindende Antikörper gegen Mycoplasma pneumoniae. Dabei fanden sich bei 16,4% der Gesunden und bei 35,0% der Bronchitiker Antikörper. In der Höhe der Titer zeigten beide Gruppen keine Unterschiede voneinander.

Stenhouse (12) untersuchte in Sheffield Seren von 34 chronischen Bronchitikern und 19 Kontrollpersonen auf Titeranstiege komplementbindender Antikörper gegen Influenza A, B und C, Parainfluenza 1, 2 und 3, Adenovirusgruppe, RS-Virus, Psittakose, Q-Fieber und Mycoplasma pneumoniae. Routinemäßig wurden alle zwei Monate Seren gewonnen, weitere Blutentnahmen erfolgten im Verlaufe und nach akuten respiratorischen Erkrankungen. Bei der Kontrollgruppe wurde nach einer klinisch als Grippe in Erscheinung getretenen Erkrankung eine Infektion durch Influenza A nachgewiesen. Bei den Bronchitikern wurden 16 Titeranstiege gefunden, von denen vier gegen Influenza A, zwei gegen Influenza B und je einer gegen RS-Virus und Psittakose mit einer akuten Exazerbation vergesellschaftet waren, ein Anstieg gegen RS-Virus war von einer Erkrankung der oberen Luftwege begleitet, inapparent verliefen eine Infektion durch Adenovirus und zwei durch Mycoplasma pneumoniae; keine Relationen konnten für eine Infektion durch Parainfluenza 1, eine durch RS-Virus und zwei durch Psittakose aufgestellt werden. 64 Exazerbationen fanden statt, bei acht (12%) von diesen wurde eine Infektion nachgewiesen.

In einer weiteren Studie beschreibt Stenhouse (13) die Ergebnisse der Virusisolierung bei diesen Patienten. Bei jeder Konsultation wurden ein Rachenabstrich, Nasenspülflüssigkeit und Sputum gewonnen. Die Zahl der Proben betrug bei den Bronchitikern 299. Bei insgesamt 56 akuten Exazerbationen wurde achtmal (14%), im Verlaufe von sechs akuten Erkrankungen der oberen Luftwege kein einziges Mal und aus 237 Proben, bei deren Entnahme keine akute Erkrankung vorlag, fünfmal (2%) ein Rhinovirus isoliert. Von den Patienten der gesunden Kontrollgruppe wurden 88 Proben gewonnen. Aus 21 zur Zeit respiratorischer Erkrankungen entnommenen Proben wurde viermal (19%), aus den übrigen 67 Proben, bei deren Entnahme die Patienten keine Krankheitserscheinungen von Seiten der Luftwege aufwiesen, einmal (1%) ein Rhinovirus isoliert.

Fisher u.a. (14) studierten in Edinburgh den Krankheitsverlauf bei 23 Patienten. Die Studie erstreckte sich bei 14 Patienten über 29 Monate, bei neun über 1 - 14 Monate. Zweimonatlich gewann man Sputum, Rachenabstrich, Nasenspülflüssigkeit und Blut; letzteres wurde außerdem noch 2 - 4 Wochen nach Exazerbationen abgenommen. Die Studie besteht aus einem bakteriologischen und virologischen Teil. Bakterien und Viren wurden isoliert, die Komplementbindungsreaktion mit den Antigenen Influenza A, B und C, Sendai-Virus, Parainfluenza 1, Adenovirus, RS-Virus, Psittakose, Q-Fieber und Mycoplasma pneumoniae ausgeführt. Bei gelungener Virusisolierung und negativer Komplementbindungsreaktion wurde noch ein Neutralisationstest angeschlossen. Bei 63 Exazerbationen ergab die Isolierung je einmal Influenza B, Rhinovirus und Adenovirus, die

Serologie dreimal Influenza A, je einmal Influenza B, Sendai-Virus, RS-Virus und Rhinovirus, zweimal Mycoplasma pneumoniae; das sind neun (14%) der Exazerbationen. Bei den 189 Routineseren ergaben sich je einmal Influenza A, Influenza B, Adenovirus und RS-Virus, je zweimal Sendai-Virus und Mycoplasma pneumoniae, das sind acht (4%) der Routineseren. Neunmal gelang eine Virusisolierung, ohne daß serologisch ein Nachweis möglich war; bei einer Exazerbation und sieben Routineentnahmen wurde Herpes-simplex-Virus, bei einer Routineentnahme ein nicht identifiziertes Enterovirus gefunden. Von den bakteriologischen Ergebnissen sei erwähnt, daß bei 20 (32%) der Exazerbationen Pneumococcus und / oder Haemophilus influenzae (ohne Virus), bei zwei (3%) Virus und Pneumococcus gefunden wurden. Kein Anhaltspunkt für eine Infektion ergab sich bei 35 (56%) der Exazerbationen.

III. Material und Methodik

1. Patienten und Untersuchungsmaterial

In diese Studie wurden in der Zeit zwischen Dezember 1966 und September 1969 415 männliche Patienten mit chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung (chronische Bronchitis, Asthma, Emphysem, entsprechend der internationalen Klassifikation) aufgenommen. Diese Patienten wurden einem Heilverfahren unterzogen. Vor und nach dem Verfahren wurde für unsere serologischen Untersuchungen je eine Blutprobe abgenommen.

191 Serenpaare dieser Patienten haben wir auf hämagglutinationshemmende Antikörper gegen alle 14 Typen der Adenoviren der Untergruppe II untersucht, alle 415 mit der Komplementbindungsreaktion auf Antikörper gegen die im Folgenden angegebenen Antigene. Bei 203 Serenpaaren verwendeten wir die Antigene Influenza A lösl., A_2 Berlin 62, B und C, Parainfluenza 1, 2 und 3, RS-Virus, Adenovirus-Gruppenantigen, Reovirus und Mycoplasma pneumoniae. Bei den übrigen 212 Paaren wurde statt des Antigens Influenza A_2 Berlin 62 das Antigen Influenza A_2 Hongkong benutzt, Reovirus wurde weggelassen.

Die Altersverteilung der Patienten beider Gruppen ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1: Altersverteilung der Patienten, mit deren Seren die HA-Hemmung bzw. die Komplementbindungsreaktion ausgeführt wurde.

Alter der Patienten in Jahren	HA-Hemmung ausgeführt	Komplement bindungsreaktion ausgeführt
unter 19	5	11
20-24	4	9
25-29	12	23
30-34	26	56
35-39	34	70
40-44	35	70
45-49	41	101
50-54	32	70
über 54	1	1
keine Angabe	1	4

2. Gewinnung der Seren

Den Patienten wurden in einem Intervall, das zwei bis sechs, durchschnittlich aber drei Monate betrug, zwei Blutproben ohne Zusatz gerinnungshemmender Mittel entnommen. Die Proben wurden fünf Minuten lang zentrifugiert (2500 U/min.). Das überstehende Serum wurde steril in Fläschchen abgefüllt und bis zur weiteren Verwendung bei einer Temperatur von -20° C eingefroren.

3. Hämagglutinationshemmung

Adenoviren der Untergruppe II besitzen die Fähigkeit, Rattenerythrozyten zu agglutinieren. Die HA-Hemmung durch Antikörper ist weitgehend typspezifisch. Die nach Infektion beim

Menschen auftretenden Antikörper sind gleichfalls zum großen Teil homotypisch (Rosen (15)), wenn auch Ausnahmen vorkommen (Kasel u.a.(16)). Wir führten die Reaktion auf Plexiglasplatten mit runden Vertiefungen zur Aufnahme der Reagenzien aus.

a. Reagenzien

Zur Ausführung der HA-Hemmung sind folgende Reagenzien notwendig:

1. Rattenblutkörperchen,
2. die zu untersuchenden Seren,
3. das hämagglutinierende Virus.

1. Rattenblutkörperchen. Das der Ratte durch Herzpunktion unter Zusatz von Natriumcitratlösung entnommene Blut wurde dreimal in isotonischer Kochsalzlösung gewaschen. Eine 4%ige Rattenblutkörperchensuspension in 0,9 %iger Kochsalzlösung unter Zusatz von 1/50 Pufferlösung nach McIlvaine (pH 7,2) benutzten wir zur Absorption der Seren, eine 2%ige zur Hämagglutinationshemmungsreaktion. Zur Hämagglutinationsreaktion wurde der 2%igen Suspension Kaninchenserum in einer Endkonzentration von 0,5% zugesetzt.

2. Seren. Zur Entfernung etwa vorhandener heterospezifischer Agglutinine absorbierten wir die Seren zweimal mit der oben beschriebenen 4%igen Rattenblutkörperchensuspension. In einem Zentrifugenröhrchen vermischten wir Serum und Rattenblutkörperchensuspension im Verhältnis 1:1 und ließen unter wiederholtem Umschütteln die Mischung eine Stunde bei 4° C stehen. Dann zentrifugierten wir fünf Minuten lang mit 5000 U/min. Der Überstand wurde in ein neues Röhrchen abgegossen, mit der gleichen Menge 4%iger Rattenblutkörperchen-

suspension wie oben vermischt und wieder eine Stunde stehen gelassen, diesmal bei Zimmertemperatur. Nach erneutem Zentrifugieren wurde der Überstand in ein Fläschchen abgegossen und ebenso viel isotonische, mit McIlvaine-Puffer versetzte Kochsalzlösung hinzugegeben wie oben jeweils an Rattenblutkorperchensuspension. Das Serum lag nun in der Verdünnung 1:4 vor (1 Teil Serum + 2 x 1 Teil Rattenblutkörperchensuspension + 1 Teil Kochsalzlösung). Wir bewahrten es bei -20° C auf.

3. Als Hämagglutinin benutzten wir in HeLa- oder Strumazellkulturen gezüchtete Prototypen der Adenoviren der Untergruppe II. Sie wurden unter den gleichen Bedingungen wie die Seren aufbewahrt.

b. Austestung des Hämagglutinins

Zur HA-Hemmungsreaktion haben wir das Vierfache der gerade noch agglutinierenden Dosis benutzt. Zur Austestung stellten wir in den Vertiefungen einer Platte eine Verdünnungsreihe des Virus mit dem Faktor 2 her, mit 1:5 beginnend. Die Verdünnung erfolgte mit isotonischer Kochsalzlösung unter Zusatz von 1/50 McIlvaine-Puffer. Die Menge des verdünnten Hämagglutinins betrug jeweils 0,4 ml. Hinzu kamen 0,2 ml der o.a. 2%igen Blutkörperchensuspension mit Zusatz von Kaninchenserum. Durch vorsichtiges Umschütteln wurde gut durchgemischt. Nachdem sich die Blutkörperchen am Boden abgesetzt hatten, lasen wir die Reaktion im durchfallenden Licht ab.

Da wir zur HA-Hemmung nur 0,2 ml Hämagglutinin benutzten, war folgende Verdünnung notwendig, um im gegebenen Volumen die vierfache Agglutinationsdosis zu haben: $t_{HAH} = 8 \times t_{HA}$, wobei t_{HAH} die zur HAH benutzte, t_{HA} die gerade noch agglutinierende Verdünnung bedeutet.

c. Durchführung der Hämagglutinationshemmungsreaktion

Wir testeten zunächst alle Seren in den Verdünnungen 1:5 und 1:20 gegen die Viren aus.

Zur Arbeitserleichterung haben wir zur Dosierung der Seren eine Tropfpipette benutzt, bestehend aus einem Gummiball, einem Glaszylinder und einer abgeschliffenen Kanüle. Das Volumen eines Tropfens betrug 0,02 ml.

Die zur Reaktion benutzten Volumina an Hämagglutinin und Rattenblutkörperchensuspension betrugen jeweils 0,2 ml. Von den vorbereiteten, im Verhältnis 1:4 verdünnten Seren wurden 0,16 ml = 8 Tropfen benutzt. Diese Menge entspricht 0,2 ml eines im Verhältnis 1:5 verdünnten Serums. Die Verdünnung 1:20 stellten wir dadurch her, daß wir 0,04 ml = 2 Tropfen der vorbereiteten Seren mit 0,12 ml = 6 Tropfen gepufferter Kochsalzlösung vermischten. Diese 0,16 ml entsprechen 0,2 ml eines im Verhältnis 1:20 verdünnten Serums.

Zu den Seren pipettierten wir jeweils 0,2 ml Virushämagglutinin in der vorher ermittelten Konzentration hinzu. Nach 15 Minuten Einwirkungszeit gaben wir je 0,2 ml der 2%igen Blutkörperchensuspension hinzu und durchmischten gründlich. Nach Absetzen der Blutkörperchen lasen wir die Reaktion im durchfallenden Licht ab.

An Kontrollen wurden mitgeführt:

1. Serumkontrollen in den gleichen Konzentrationen, wie sie zum Test benutzt wurden. An Stelle der 0,2 ml Hämagglutinin wurde die gleiche Menge gepufferter Kochsalzlösung hinzugegeben.

2. Antigenkontrollen. Mit der Hälfte der zur HA-Hemmung benutzten Konzentration beginnend, wurden fünf Verdünnungsschritte mit dem Faktor 2 unternommen. Das Volumen des Hämagglutinins betrug hierbei, analog zur Austestung, 0,4 ml. Die Rattenblutkörperchensuspension wurde wie bei der Austestung mit Kaninchenserum versetzt.

Es wurden immer beide Seren eines Patienten gleichzeitig gegen sämtliche benutzten Virustypen ausgetestet. Bei der Ablesung dieser Reaktion bezeichneten wir vorläufig das vollständige Fehlen und geringe Spuren einer Agglutination als Hemmung.

Die möglichen Kombinationen des Ausfalls der Reaktion sind in Tabelle 2 aufgezeigt.

Tabelle 2: Mögliche Kombinationen des Ausfalls der HA-Hemmung mit den beiden Patientenseren.

	Serum-verdünnung	Ergebnis der Reaktion							
Serum I	1:5	+	o	o	+	o	+	o	o
	1:20	+	+	o	+	+	+	o	o
Serum II	1:5	+	o	o	o	o	o	o	+
	1:20	+	+	o	+	o	o	+	+
Nr. der Erläuterung		1	2	3	4	5	6	7	8

+ = Agglutination o = Agglutination gehemmt

Interpretation der verschiedenen Möglichkeiten:

1: Es sind keine hämagglutinationshemmenden Antikörper vorhanden.

2: In beiden Seren ist der Titer etwa gleich (1:5 oder 1:10),

3: In beiden Seren ist ein Antikörpertiter von mindestens 1:20 vorhanden. Der Titer ist entweder stationär, oder es ist ein Anstieg oder Abfall vorhanden.

4: Titeranstieg. Im ersten Serum befinden sich keine Antikörper, im zweiten Serum beträgt der Titer 1:5 oder 1:10.

5: Unsicherer Titeranstieg. Im ersten Serum ist der Titer 1:5 oder 1:10, im zweiten mindestens 1:20.

6: Titeranstieg. Im ersten Serum sind Antikörper nicht nachweisbar, im zweiten ist ein Titer von mindestens 1:20 vorhanden.

7: Unsicherer Titerabfall von mindestens 1:20 im ersten Serum, auf 1:10 bis 1:5 im zweiten.

8: Titerabfall. Im ersten Serum beträgt der Titer mindestens 1:20, im zweiten sind keine Antikörper vorhanden.

Da es uns darauf ankam, Titeranstiege nachzuweisen, haben wir die Serenpaare genauer austitriert, bei denen nach dieser Suchreaktion solche möglich waren, also bei Ausfall nach Nr.3, 4, 5 und 6.

Von den Serenpaaren, die nach Nr.3 die Agglutination hemmten, haben wir Verdünnungsreihen mit dem Faktor 2 hergestellt, zunachst von 1:8 bis 1:64, dann noch weiter, wenn es nötig war. Hierbei wurde, wie allgemein üblich, pipettiert.

Die Serenpaare, bei denen sich das Ergebnis Nr.4 einstellte, wurden in den Verdünnungen 1:5, 1:10 und 1:20 untersucht.

Bei Ausfall nach Nr.5 untersuchten wir das erste Serum in den Verdünnungen 1:5, 1:10 und 1:20, das zweite 1:10, 1:20 und 1:40; bei Ausfall nach Nr.6 das erste in den Konzentrationen 1:5 und 1:20, das zweite 1:10, 1:20 und 1:40. Hierbei arbeiteten wir mit der Tropfpipette.

Als signifikant sahen wir einen Titeranstieg um mindestens das Vierfache an. Als Hemmung bezeichneten wir hierbei nur vollständiges Fehlen von Agglutination. Ebenso war nur die vollständige Agglutinationshemmung durch die Serumverdünnung 1:5 des ersten Serums das Kriterium für den Nachweis etwa vorhandener Antikorper. Titerabfälle ließen wir unberücksichtigt.

4. Komplementbindungsreaktion

Wir führten die Komplementbindungsreaktion nach der Mikromethode mit verlängerter Bindungszeit bei ca. 4° C durch, wie sie bei Wigand (17) beschrieben ist. Serum- und Antigenmenge bleiben konstant, die Komplementmenge ist variabel.

a. Reagenzien

Folgende Reagenzien sind notwendig:

1. Hammelblutkörperchen
2. Hämolytischer Ambozeptor
3. Komplement
4. Antigene
5. die zu untersuchenden Seren

1. Hammelblutkörperchen. Das durch Venenpunktion entnommene Hammelblut wurde durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Eine Mischung von fünf Teilen Alseverscher Lösung und einem Teil Hammelblut wurde bei 4° C aufbewahrt. Zur Herstellung der zur Komplementbindungsreaktion benötigten Erythrozytensuspension wuschen wir die Blutkörperchen zunächst dreimal in Kochsalzlösung mit Zusatz von Veronal-Puffer (pH 7,2) nach Mayer u.a. (18). Von den gewaschenen Erythrozyten stellten wir eine 10%ige Suspension in Pufferlösung her, die dann im hämolytischen System Verwendung fand.

2. Hämolytischer Ambozeptor. Es handelt sich bei dem von uns verwendeten Ambozeptor um ein käufliches Anti-Hammelerythrozyten-Immunserum vom Kaninchen, das mit 0,9%iger

Kochsalzlösung unter Zusatz von 1% Glycerin und 0,1% Phenol (Endkonzentrationen) im Verhältnis 1:100 verdünnt und bei 4° C aufbewahrt wurde.

3. Komplement. Wir verwendeten Meerschweinchenserum, das im Eisbad abgefüllt und bis zum Gebrauch bei -70° C eingefroren wurde.

4. Antigene. Wir benutzten folgende Antigene: Influenza A lösl. von Microbiological Associates (MBA), Influenza A_2 Berlin 62, Influenza A_2 Hongkong und Influenza B von ASTA, Influenza C, Parainfluenza 1, 2 und 3 sowie RS-Virus von MBA; Mycoplasma pneumoniae stammte von Burroughs Wellcome & Co.. Reovirus-Antigen stellten wir durch Züchtung von Typ 1 in Affennierenkultur her. Als Adenovirus-Gruppenantigen benutzten wir ein Gemisch der Typen 2 und 3, die beide in HeLa-Zellkulturen gezüchtet und 30 Minuten lang auf 56° C erhitzt wurden. Alle Antigene wurden bei -20° C aufbewahrt, mit Ausnahme der Influenza A_2- und Influenza B - Antigene, die wir bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrten.

5. Patientenseren. Die Seren wurden mit Veronal-Pufferlösung im Verhältnis 1:5 verdünnt und in Fläschchen abgefüllt. Zur Zerstörung des Komplementes wurden sie über 30 Minuten in ein Wasserbad von 56° C gestellt. Die Aufbewahrung bis zur weiteren Verwendung erfolgte bei einer Temperatur von -20° C.

b. Austestung der Antigene

Zur Wahl der Konzentration des Antigens für die Serumtitration stellten wir in einem Vorversuch die Konzentration fest, bei der eine maximale Menge an Komplement verbraucht wurde.

Zunächst ist sowohl für den Vorversuch als auch für die Austestung der Seren eine Komplementverdünnungsreihe notwendig. Wir benutzten, bei 1:2,0 beginnend, eine Reihe mit dem Faktor 1,6. Die Konzentration wird als logarithmische Reihe angegeben, und zwar als Logarithmus der in der benutzten Menge jeweils enthaltenen mm^3 natives Komplement. Die Reihe beginnt mit 1,0 (Konzentration: 1:2,0) und endet mit 0,4 - 2 (Konzentration: 1 : 800,0). Meistens ist der Teil der Reihe von 0,2 bis 0,8 - 2 ausreichend. Wir achteten darauf, daß die Temperatur des Komplements immer möglichst niedrig war.

Wir benutzten zur Austestung der Antigene und für die Titration der Seren die gleichen Platten wie zur HA-Hemmung. Von dem Antigen stellten wir mit Veronalpufferlösung eine Verdünnungsreihe mit dem Faktor 2 her, z.B. von 1:4 bis 1:64. Mit der oben erwähnten Tropfpipette tropften wir von jeder Verdünnung eine Reihe von sechs Tropfen. Auf der Platte befanden sich dann untereinander fünf Reihen zu je sechs Tropfen. Zu jedem dieser Tropfen hinzu kam die gleiche Menge käuflich erhältliches Immunserum in etwas höherer als der vom Hersteller angegebenen Konzentration.

Senkrecht zu den Antigenreihen tropften wir die Komplementreihen, ebenfalls für jede Reaktion einen Tropfen. Eine Reihe von 0,2 bis 0,2 - 1 erwies sich uns als zweckmäßig. Als Kontrollen führten wir mit:

1. Eine Antigenkontrolle von jeder Antigenverdünnung, wobei statt Immunserum inaktiviertes Meerschweinchenserum in einer Verdünnung von 1:50 eingefüllt wurde.

2. Eine Komplementkontrolle, welche die Komplementstärke zeigt. Hierbei wurde das Immunserum wie oben durch Meerschweinchenserum und das Antigen durch Pufferlösung ersetzt.

3. Eine Serumkontrolle, bei der statt Antigen Pufferlösung eingefüllt wurde.

Für die Kontrollen waren fünf Tropfen jeweils ausreichend und eine Komplementreihe von 0,6 - 1 bis 0,8 - 2.

Die so vorbereiteten Platten wurden in feuchte Tücher eingewickelt und über Nacht bei 4° C in den Kühlschrank gestellt. Als Bindungszeit wurden etwa 18 Stunden gewählt. Am nächsten Tag bereiteten wir zunächst das hämolytische System zu. Auf 18 Teile Veronal-Puffer-Lösung gaben wir je einen Teil Ambozeptorlösung (1:100) und Hammelblutkörperchen (1:10). Das System blieb etwa 15 Minuten unter öfterem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen. Auf die Platten gaben wir davon pro Reaktion einen Tropfen. Über zwei Stunden wurden die Platten dann bei 37° C inkubiert, wieder in feuchte Tücher eingewickelt, um Austrocknen zu vermeiden. Danach begünstigten wir durch vorsichtiges Klopfen die

Ansammlung der nicht gelosten Erythrozyten am Grund der Vertiefung. Abgelesen wurde die Komplementmenge, bei der die Hälfte der Erythrozyten aufgelöst war.

Zur Komplementbindungsreaktion mit den Patientenseren benutzten wir die Antigenverdünnung mit dem Maximum an Komplementverbrauch im Vorversuch.

Die Komplementkontrolle lag meist bei 0,8 - 2 bis 0 - 1. Die Mehrzahl der Serum- und Antigenkontrollen zeigte nur wenig oder keine antikomplementären Eigenschaften.

c. Titration der Patientenseren.

Wir testeten beide Seren der Patienten gleichzeitig aus, um gleiche Bedingungen für beide zu gewährleisten. Sie wurden beide in der Verdünnung 1:5 benutzt, so wie sie vorher vorbereitet waren.

Eine Komplementverdünnungsreihe von 0 bis 0,2 - 1, bei einigen geringfügig antikomplementären Antigenen von 0,2 bis 0,4 - 1, pro Serum und Antigen war ausreichend.

Mitgeführt haben wir von jedem Serum eine Serumkontrolle mit einer Komplementreihe von 0,8 - 1 bis 0 - 1 und von jedem Antigen eine Antigenkontrolle mit einer Komplementreihe von 0,6 - 1 bis 0,8 - 2, außerdem eine Komplementkontrolle mit der gleichen Komplementreihe wie bei der Antigenkontrolle. Beim Ablesen der Reaktion sahen wir einen Unterschied von mehr als anderthalb Komplementverdünnungsstufen zwischen der am meisten bindenden Kontrolle (das ist in der Regel die Serumkontrolle) und der Titration als signifikante Komple-

mentbindung an. Als Titerdifferenz zwischen erstem und zweitem Serum werteten wir ferner einen Unterschied von mehr als anderthalb Verdünnungsstufen unter Berücksichtigung etwa unterschiedlicher antikomplementärer Eigenschaften.

Mit allen jenen Serenpaaren, die einen Titeranstieg vom ersten zum zweiten Serum zeigten, wiederholten wir die Reaktion. Wenn auch beim zweiten Mal die Reaktion einen Unterschied von mehr als anderthalb Stufen zeigte, sahen wir einen Titeranstieg endgültig als gegeben an. Titerabfälle blieben unberücksichtigt.

Wenn ein Serenpaar mit einem Antigen so stark reagierte, daß die Breite der Komplementreihe nicht ausreichte, wurde die Reaktion mit in Richtung größerer Konzentrationen verlängerter Komplementverdünnungsreihe wiederholt.

5. Klinische Beobachtungen

a. Anamnese

Von den bei beiden Untersuchungen gestellten Fragen verwerteten wir:

1. die Angabe über Fieber über 37,5° C im letzten Jahr vor der Erstuntersuchung. Mögliche Antworten waren:
   a. nein, kein Fieber,
   b. ja, nur in den letzten Tagen vor der Erstuntersuchung,
   c. ja, früher und in den letzten Tagen vor der Erstuntersuchung,
   d. ja, nur früher, einmal,
   e. ja, nur früher, mehrmals.

2. Angaben über Erkältung bei der ersten und zweiten Untersuchung und im Intervall, also zwischen Erst- und Nachuntersuchung. Hierbei lauteten die Antworten entweder "ja" oder "nein". Als Erkältung wurden akute bronchitische Erkrankungen, Husten, Laryngitis und Schnupfen bezeichnet.

Wir sind uns darüber klar, daß der Unsicherheitsfaktor anamnestischer Angaben groß ist.

b. Klinische Messungen

Bei allen Patienten wurde bei beiden Untersuchungen die relative Sekundenkapazität gemessen (Tiffeneau-Test). Das ist das in Prozenten der Vitalkapazität ausgedrückte, vom Patienten nach maximaler Inspiration mit möglichst großer Kraft im Verlaufe der ersten Sekunde wieder ausgeatmete Volumen. Der Soll-Wert beträgt etwa 70-80% der Ist-Vitalkapazität. Eine Einschränkung des Tiffeneau-Testes läßt auf eine bronchiale Obstruktion schließen. Wir verwerteten die Angabe über Verschlechterung, Gleichbleiben und Besserung der Werte im Verlaufe des Intervalls. Als Gleichbleiben wurden Änderungen bis zu 10% in beiden Richtungen bezeichnet.

6. Auswertung der erhaltenen Daten

Die Auswertung der Daten erfolgte mittels Sichtlochkarten. Pro Merkmal wurde eine Karte angelegt, auf der die Nummern der Patienten gelocht wurden, die dieses Merkmal trugen.

7. Statistische Methode

Eine statistische Prüfung auf Signifikanz war bei den Tabellen 5, 6, 11, 12, 15 bis 17 und 22 notwendig. Es handelte sich um eine vergleichende Prüfung von Häufigkeiten bei Stichproben aus einer binomialen Bevölkerung. Der Vergleich erfolgte auf Grund von chi^2. Bei der Interpretation der statistischen Prüfung hielten wir uns an die konventionellen Grenzen (P kleiner als 0,05 als Kriterium für Signifikanz).

IV. Ergebnisse des Hämagglutinationshemmungstests

1. Titeranstiege

Bei Durchführung von über 2670 Tests zeigte nur ein einziger Patient einen Titeranstieg, und zwar gegen Typ 13. Aus der Anamnese ergab sich kein Hinweis auf eine durch diese Infektion hervorgerufene Erkrankung.

2. Ergebnis der HA-Hemmung mit dem ersten Serum

In Tabelle 3 wird die Häufigkeit hämagglutinationshemmender Antikörper gegen Adenoviren der Untergruppe II dargestellt.

Tabelle 3: Verteilung positiver und negativer Ergebnisse des HA-Hemmungs-Tests auf Antikörper gegen Adenoviren der Untergruppe II.

Adenovirus-Typ	8	9	10	13	15	17	19	22
Anzahl der positiven Seren	44	36	42	54	6	29	40	5
	23%	19%	22%	28%	3%	15%	21%	3%

Adenovirus-Typ	23	24	26	27	29	30	negativ
Anzahl der positiven Seren	21	16	79	40	66	11	43
	11%	8%	41%	21%	35%	6%	23%

Die Patienten wurden in drei Gruppen eingeteilt, je nachdem, ob ihr Serum keine Antikörper aufwies, gegen 1 - 3 oder mehr als 3 Antigene positiv reagierte (Tabelle 4).

Tabelle 4: Aufteilung der Patienten nach Anzahl der positiven Befunde bei der HA-Hemmung mit dem ersten Serum.

Ergebnis der HA-Hemmung	negativ	positiv mit 1-3 Antigenen	positiv mit 4 und mehr Antigenen	Summe
Anzahl der	43	100	48	191
Patienten	22,5%	52,3%	25,2%	100%

3. Vergleich der Ergebnisse der HA-Hemmung mit dem ersten Serum und der Angaben aus der Anamnese

Tabelle 5 zeigt die Relationen zwischen den serologischen Befunden und den Angaben über Fieber im letzten Jahr vor der Erstuntersuchung, soweit dieses nicht nur in den letzten Tagen vorhanden war. Es bestehen keine Beziehungen zwischen dem Vorkommen von HA-hemmenden Antikörpern gegen bestimmte Typen und der Häufigkeit fieberhafter Erkrankungen; vielmehr ist der Prozentsatz der Patienten mit Fieber in allen Rubriken ohne wesentliche Unterschiede; insbesondere unterscheidet sich die Fieberhäufigkeit der Patienten ohne positiven Serumbefund nicht statistisch signifikant von der der anderen Patienten.

Tabelle 5: Relationen zwischen Serumbefund bei der HA-Hemmung mit dem ersten Serum und Fieber im Jahr vor der ersten Untersuchung (außer nur in den letzten Tagen).

Adenovirustyp	Summe der HAH-positiven Seren	Fieber über 37,5° C im letzten Jahr				
		Summe	früher und letzte Tage	nur früher, einmal	nur früher, mehrmals	keine Angabe
8	44	13 30%	1	8	4	-
9	36	14 39%	-	12	2	-
10	42	18 44%	1	13	4	1
13	54	15 28%	1	11	3	1
15	6	4 67%	-	3	1	-
17	29	14 52%	-	9	5	2
19	40	11 29%	1	7	3	2
22	5	1 20%	-	1	-	-
23	21	7 35%	-	4	3	1
24	16	4 25%	-	3	1	-
26	79	32 42%	1	21	10	3
27	40	15 38%	-	11	4	1
29	66	31 48%	2	16	13	1
30	11	4 36%	-	2	2	-
negative Seren	43	19 45%	2	9	8	1

Anmerkung: Die Prozentzahlen in dieser und allen folgenden Tabellen, in denen eine Spalte "keine Angabe" vorhanden ist, beziehen sich nur auf die Patienten, von denen Angaben vorlagen.

In Tabelle 6 sind die Beziehungen zwischen der Zahl der positiven Befunde pro Patient und dem Vorkommen von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung, soweit dieses nicht nur in den letzten Tagen vorhanden war, dargestellt. Es sind keine signifikanten Unterschiede in der Erkrankungshäufigkeit der einzelnen Gruppen vorhanden. Kein Anhaltspunkt ergibt sich somit dafür, daß die Patienten mit Fieber häufiger als andere mit Adenoviren der untersuchten Typen infiziert wurden. Die vorangegangenen Infektionen scheinen also in keiner ätiologischen Beziehung zu fieberhaften Erkrankungen im letzten Jahr zu stehen.

Tabelle 6: Beziehungen zwischen dem Vorkommen von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung (außer nur in den letzten Tagen) und der Anzahl der positiven Befunde pro Serum bei der HA-Hemmung.

Anzahl der positiven Befunde im Serum	Summe der Seren	Fieber über 37,5° C im letzten Jahr				
		Summe	früher und letzte Tage	nur früher, einmal	nur früher, mehrmals	keine Angabe
Keine	43	19 45%	2	9	8	1
1 - 3	100	37 39%	-	24	13	4
4 und mehr	48	19 41%	1	13	5	1
Alle Patienten	191	75 41%	3	46	26	6

Zur Untersuchung der Frage, ob frühere Infektionen mit Adenoviren einen Schutz gegen Erkältungskrankheiten zur Folge haben, stellten wir in der Tabelle 7 die Beziehungen zwischen dem Vorhandensein von Antikörpern und dem anschließen-

den Vorkommen von Erkältung auf, wobei wir die Patienten danach unterteilten, gegen welche Adenovirustypen ihre Seren positiv reagierten. Ein Unterschied in der Erkrankungshäufigkeit ist bei den einzelnen Patientengruppen mit HA-hemmenden Antikörpern gegen die verschiedenen Virustypen aus Tabelle 7 nicht ersichtlich. Es ergibt sich also kein Anhaltspunkt dafür, daß vorausgehende Infektionen mit einzelnen Adenovirustypen einen Schutz gegen spätere Erkältungskrankheiten hinterließen.

Tabelle 7: Beziehungen zwischen dem Vorhandensein von HA-hemmenden Antikörpern gegen die einzelnen Adenovirustypen und der Häufigkeit von Erkältung bei der Erstuntersuchung, im Intervall und bei der Zweituntersuchung.

Adenovirustyp	Anzahl der Patienten mit HAH-Antikörpern	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Erkältung bei 2.Untersuchung	keine Angabe
8	44	8 18%	8 18%	1 2%	-
9	36	6 17%	8 22%	1 3%	-
10	42	7 17%	6 15%	- -	1
13	54	8 15%	6 11%	1 2%	1
15	6	1 17%	1 17%	1 17%	-
17	29	7 26%	3 11%	- -	2
19	40	9 24%	5 13%	1 3%	2
22	5	1 20%	1 20%	- -	-
23	21	1 5%	3 15%	2 10%	1
24	16	2 13%	3 19%	- -	-
26	79	13 17%	14 18%	3 4%	3
27	40	5 13%	6 15%	1 3%	1
29	66	12 19%	8 12%	3 5%	1
30	11	5 45%	- -	- -	-
negativ	43	9 22%	5 12%	5 12%	2

Ebenfalls zur Untersuchung dieser Frage stellt Tabelle 8 die Relationen zwischen der Anzahl positiver Befunde pro Serum und dem Vorkommen von Erkältungskrankheiten dar. Hierbei ergibt sich nicht, daß frühere Infektionen mit mehreren Typen größeren Schutz gewährten.

Tabelle 8: Beziehungen zwischen dem Vorkommen von Erkältung bei der Erstuntersuchung, im Intervall und bei der Zweituntersuchung und der Anzahl der bei der HA-Hemmung positiven Befunde pro Serum.

Anzahl der positiven Befunde im Serum	Anzahl der Patienten	Erkältungen			
		bei 1.Untersuchung	im Intervall	bei 2.Untersuchung	keine Angabe
keine	43	9 22%	5 12%	5 12%	2
1 - 3	100	18 19%	15 16%	5 5%	4
4 und mehr	48	9 19%	8 17%	1 2%	1
alle Patienten	191	36 20%	28 15%	11 6%	7

Die Tabelle 9 setzt die Anzahl positiver Befunde pro Serum in Beziehung zur Änderung der relativen Sekundenkapazität im Intervall. Es ergibt sich kein Hinweis dafür, daß vorangegangene Infektionen mit den Adenovirustypen einen Schutz gegen Verschlechterung dieser Werte, die eventuell durch diese Erreger bedingt sein könnte, hinterließen. Vielmehr ist das Verhältnis von Patienten, bei denen sich die Werte verbesserten, zu denen mit Verschlechterung in allen Gruppen ohne wesentliche Unterschiede.

Tabelle 9: Anzahl bei der HA-Hemmung positiver Befunde pro Serum und Änderung der relativen Sekundenkapazität im Intervall.

Anzahl der positiven Befunde im Serum	Relative Sekundenkapazität bei Nachuntersuchung gegenüber Erstuntersuchung				
	verschlechtert		gleich	gebessert	
	über 19%	10-19%	± 10%	10-19%	über 19%
keine	6 14%	8 19%	12 28%	12 28%	5 11%
1 - 3	15 15%	20 20%	26 26%	21 21%	18 18%
4 und mehr	7 15%	7 15%	12 25%	7 14%	15 31%
alle Patienten	28 15%	35 19%	50 25%	40 21%	38 20%

V. Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion

1. Titeranstiege

Signifikante Titeranstiege gegen eines oder mehrere Antigene zeigten 37 (8,9%) der Serumpaare der 415 Patienten. In Tabelle 10 sind diese Fälle dargestellt. Es wird dort angegeben, gegen welche Antigene ein Titeranstieg festgestellt wurde, ob die Patienten in den letzten Tagen vor der Erstuntersuchung Fieber hatten, ob sie bei der Erstuntersuchung oder im Intervall erkältet waren und ob sich die Werte der relativen Sekundenkapazität im Intervall verschlechterten.

Tabelle 10: Patienten mit Titeranstieg gegen ein oder mehrere Antigene, anamnestische Daten und Änderung der relativen Sekundenkapazität im Intervall zwischen den beiden Serumentnahmen.

Pat. Nr.	Titeranstieg gegen	Fieber in den letzten Tagen	Erkältung bei 1. Untersuchung	Erkältung im Intervall	Rel. Sekundenkapazität verschlechtert
1	Influenza A lösl.	-	+	-	-
2	Influenza A lösl.	-	-	+	+
3	Influenza A lösl.	-	-	+	-
4	Influenza A lösl.	-	-	-	+
5	Influenza A lösl.	-	-	-	-
6	Influenza A lösl.	-	-	-	-
7	Influenza A lösl.	-	-	-	-
8	Influenza A lösl./ A_2 Berlin 62	-	-	-	-
9	Influenza A lösl./ A_2 Hongkong	-	+	+	-

(Fortsetzung nächste Seite)

(Tabelle 10, Fortsetzung)

Pat. Nr.	Titeranstieg gegen	Fieber in den letzten Tagen	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Rel.Sekundenkapazität verschlechtert
10	Influenza A lösl./ A_2 Hongkong	-	+	-	-
11	Influenza A lösl./ Reovirus	+	+	-	-
12	Influenza A lösl./ RS-Virus	-	-	-	-
13	Influenza A lösl./ A_2 Hongkong/RS-Virus	-	+	+	-
14	Influenza A_2 Berlin 62	-	-	-	-
15	Influenza A_2 Hongkong	-	-	-	-
16	Influenza B	-	-	-	-
17	Influenza B	-	-	-	-
18	Influenza B	-	+	-	-
19	Influenza B	-	+	+	-
20	Parainfluenza 1	-	-	+	-
21	Parainfluenza 2	-	-	-	-
22	Parainfluenza 2	-	-	-	-
23	Parainfluenza 2	-	-	+	-
24	Parainfluenza 3	-	-	+	-
25	Parainfluenza 3	-	-	+	-
26	Parainfluenza 3	+	+	+	+
27	Parainfluenza 3	-	-	-	-
28	Parainfluenza 3	-	-	-	-

(Fortsetzung nächste Seite)

(Tabelle 10, Fortsetzung)

Pat. Nr.	Titeranstieg gegen	Fieber in den letzten Tagen	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Rel.Sekundenkapazität verschlechtert
29	Parainfluenza 3/ Adenovirus	+	+	-	-
30	RS-Virus	-	-	-	+
31	Adenovirus	-	-	-	+
32	Adenovirus	-	-	-	+
33	Adenovirus	+	+	-	Angabe fehlt
34	Adenovirus	-	-	-	Angabe fehlt
35	Adenovirus	-	-	-	Angabe fehlt
36	Adenovirus	-	-	-	-
37	Adenovirus	-	-	-	-

Von den 15 Patienten mit Titeranstiegen gegen Influenza A, A_2 Berlin und A_2 Hongkong gaben sieben (47%) in ihrer Anamnese klinische Erscheinungen, also Fieber in den letzten Tagen vor der Erstuntersuchung oder Erkältung zur Zeit der Erstuntersuchung oder im Intervall an. Der Patient mit Titeranstieg gegen Influenza A lösl. und Reovirus (Nr.11 in Tabelle 10) hatte Fieber in den letzten Tagen vor der Erstuntersuchung und war zu diesem Zeitpunkt erkältet, es hatte also nur eine Erkrankung stattgefunden. Ein Patient mit Infektionen durch das Influenza A_2 Hongkong-Virus und das RS-Virus (Nr.13 in Tabelle 10) war zur Zeit der ersten

Untersuchung und im Intervall erkältet, hat also zwei Erkrankungen durchgemacht. Bei einem Patienten (Nr.9 in Tabelle 10) kamen zwei Erkrankungen bei Nachweis von nur einer Infektion vor. Ohne entsprechende Anamnese bei Infektion mit Influenza-Viren vom Typ A waren acht (53%) der 15 Patienten.

Bei zwei Patienten mit Titeranstiegen gegen Influenza A lösl. (Nr.2 und 4 in Tabelle 10) war die relative Sekundenkapazität bei der Nachuntersuchung im Vergleich zur Erstuntersuchung verschlechtert. Einer dieser beiden (Nr.2 in Tabelle 10) gab eine Erkältung im Intervall an, der zweite (Nr.4 in Tabelle 10) vermißte Krankheitserscheinungen.

Von den vier Infektionen mit Influenza B waren zwei (Nr.18 und 19 in Tabelle 10) mit Erkältung verknüpft, die beiden anderen verliefen inapparent. Einer der beiden Patienten mit Krankheitserscheinungen (Nr.19 in Tabelle 10) machte zwei Episoden durch. Eine Verschlechterung der relativen Sekundenkapazität wurde bei keinem dieser Patienten festgestellt.

Wenn man alle Infektionen mit Influenzavirus zusammenfaßt, ergibt sich, daß in neun (47%) von 19 Fällen klinische Erscheinungen aufgetreten waren. Eine Verschlechterung der relativen Sekundenkapazität ergab sich nur bei zwei der Patienten.

Der eine Patient, bei dem eine Infektion mit Parainfluenza 1 (Nr.20 in Tabelle 10) nachgewiesen wurde, gab eine Erkältungskrankheit an; die relative Sekundenkapazität verschlechterte sich bei ihm nicht.

Von den drei mit Parainfluenza 2 infizierten Patienten hatte einer (Nr.23 in Tabelle 10) eine Erkältung. Die relative Sekundenkapazität verschlechterte sich bei keinem dieser Patienten.

Sechs Patienten waren mit Parainfluenza 3 infiziert. Von ihnen gaben vier eine Erkrankung an (Nr.24 - 26 und 29 in Tabelle 10). Einer von diesen (Nr.29 in Tabelle 10) hatte gleichzeitig eine Infektion mit Adenovirus durchgemacht und war kurz vor und bei der Erstuntersuchung erkrankt; für zwei Erkrankungen bestehen somit keine Anhaltspunkte. Bei einem Patienten (Nr.26 in Tabelle 10), der bei allen drei in der Tabelle genannten Zeitpunkten erkrankt war, wurde eine Verschlechterung der relativen Sekundenkapazität festgestellt.

Von drei mit RS-Virus infizierten Patienten gab einer (Nr.13 in Tabelle 10), der außerdem noch einen Titeranstieg gegen das Influenza A_2-Hongkong-Virus zeigte, zwei Erkrankungen an. Ein weiterer dieser Patienten (Nr.12 in Tabelle 10) zeigte gleichzeitig einen Titeranstieg gegen Influenza A lösl., Bei dem dritten Patienten (Nr.30 in Tabelle 10) ergab sich eine Verschlechterung der relativen Sekundenkapazität; eine Erkrankung wurde nicht angegeben.

Wenn man die Parainfluenza- und RS-Virus-Infektionen zusammenfaßt (also Infektionen durch Paramyxoviren), ergibt sich, daß in sieben (54%) von 13 Fällen klinische Erscheinungen vorhanden waren. Die relative Sekundenkapazität verschlechterte sich nur in zwei Fällen.

Bei acht Patienten wiesen wir eine Infektion mit Adenovirus nach. Zwei von ihnen (Nr.29 und 33 in Tabelle 10) gaben eine Erkrankung an, in dem ersten Fall lag jedoch gleichzeitig eine Infektion mit Parainfluenza 3 vor. Bei zwei Patienten (Nr.31 und 32 in Tabelle 10) war die relative Sekundenkapazität verschlechtert; Krankheitserscheinungen traten nicht auf.

Insgesamt ergibt sich, daß von 37 Patienten mit Titeranstieg gegen die benutzten Antigene 16 (43,3%) Krankheitserscheinungen angaben. Demgegenüber gaben 142 (39,9%) von 356 Patienten ohne Titeranstieg eine Erkrankung an (Tabelle 11). Der Unterschied erwies sich bei der statistischen Auswertung als nicht signifikant.

Tabelle 11: Vergleich der Zahl der Patienten mit und ohne nachgewiesene Infektion mit dem Vorkommen von Erkrankungen (Fieber in den letzten Tagen vor der Erstuntersuchung, Erkältung bei der Erstuntersuchung und im Intervall).

	Anzahl	Patienten mit Erkrankungen	Keine Angaben
Patienten mit Titeranstieg	37	16 (43,3%)	-
Patienten ohne Titeranstieg	378	142 (39,9%)	22
Alle Patienten	415	159 (40,2%)	22

Ein Vergleich der Häufigkeit von Verschlechterung, Konstanz und Verbesserung der relativen Sekundenkapazität bei den Patienten mit bezw. ohne Titeranstieg findet sich in Tabelle 12. Wir fanden eine Verschlechterung in 15% der Patienten

mit Titeranstieg gegenüber 34% der ohne Anstieg. Die statistische Auswertung ergab keine Signifikanz. Ein solches Ergebnis wäre auch unsinnig, da es eine Verbesserung der Werte durch Virusinfektionen bedeuten würde.

Tabelle 12: Häufigkeit der Anderungen der relativen Sekundenkapazität im Intervall bei Patienten mit bezw. ohne Titeranstieg.

	Anzahl	Relative Sekundenkapazität			
		verschlechtert	gleich	gebessert	keine Angabe
Patienten mit Titeranstiegen	37	5 15%	12 35%	17 50%	3
Patienten ohne Titeranstiege	378	99 34%	67 23%	128 43%	84
Alle Patienten	415	104 32%	79 24%	145 44%	87

2. Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion mit dem ersten Serum

Die Häufigkeit komplementbindender Antikörper gegen die ausgetesteten Antigene ist aus Tabelle 13 ersichtlich.

Tabelle 13: Häufigkeit komplementbindender Antikörper im ersten Serum.

Antigene	Ausgetestete Seren	Seren mit Antikörpern
Influenza A lösl.	415	359 86,5%
Influenza A_2 Berlin 62	203	202 99,5%
Influenza A_2 Hongkong	212	167 78,8%
Influenza B	415	197 47,5%
Influenza C	415	72 17,3%
Parainfluenza 1	415	132 31,8%
Parainfluenza 2	415	65 15,7%
Parainfluenza 3	415	161 38,8%
RS-Virus	415	113 27,2%
Adenovirus	415	221 53,2%
Reovirus	203	45 22,2%
Mycoplasma pneumoniae	415	101 24,3%

Wir haben aus der Gesamtzahl der Patienten drei Gruppen gebildet, je nachdem ob im Serum 0 bis 4, 5 bis 6 oder mehr positive Befunde vorhanden waren. (Tabelle 14)

Tabelle 14: Aufteilung der Patienten nach Anzahl der positiven Befunde bei der Komplementbindungsreaktion mit dem ersten Serum.

Ergebnis der Komplement-bindungs-reaktion	positiv mit 0-4 Antigenen	positiv mit 5-6 Antigenen	positiv mit 7 und mehr Antigenen	Summe
Anzahl der Patienten	222 53,5%	119 28,7%	74 17,8%	415 100%

3. Vergleich der Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion mit dem ersten Serum und der Angaben aus der Anamnese

In den Tabellen 15 bis 17 sind die Beziehungen zwischen den serologischen Befunden und den anamnestischen Angaben über Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung dargestellt, soweit dieses nicht nur in den letzten Tagen vorhanden war. Tabelle 16 bezieht sich auf Reovirus, Tabelle 17 auf Influenza A_2 Berlin 62 und Influenza A_2 Hongkong, Tabelle 15 auf die übrigen Antigene. Der Anteil der Patienten mit Fieber ist in allen Rubriken ohne statistisch signifikante Unterschiede. Häufiger scheinen die Patienten Fieber gehabt zu haben, die Antikörper gegen Parainfluenza 2 und gegen Reovirus aufwiesen. Jedoch ließ sich dieser Befund statistisch nicht sichern. Ebenso sind scheinbar die Patienten mit Antikörpern gegen Influenza A_2 Berlin 62 häufiger fieberhaft erkrankt gewesen als die Patienten mit Antikörpern gegen Influenza A_2 Hongkong, ohne daß sich statistisch Signifikanz nachweisen ließ.

Tabelle 15: Häufigkeit von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung bei Patienten mit komplementbindenden Antikörpern gegen die ausgetesteten Antigene (außer Influenza A_2 Berlin 62, Influenza A_2 Hongkong und Reovirus und außer Fieber nur in den letzten Tagen).

Antikörper gegen	Summe der positiven Seren	Fieber über 37,5°C im letzten Jahr: Summe	früher und letzte Tage	nur früher, einmal	nur früher, mehrmals	keine Angabe
Influenza A lösl.	359	121 35,6%	6	77	38	19
Influenza B	197	71 37,1%	4	48	19	6
Influenza C	72	21 31,3%	-	15	6	5
Parainfluenza 1	132	42 33,3%	1	28	13	6
Parainfluenza 2	65	27 44,3%	2	16	9	4
Parainfluenza 3	161	52 34,0%	2	31	19	8
RS-Virus	113	40 36,6%	1	27	12	4
Adenovirus	221	66 29,9%	4	42	20	10
Mycoplasma pneumoniae	101	29 30,5%	2	14	13	6

Tabelle 16: Vorkommen von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung bei Patienten mit komplementbindenden Antikörpern gegen Reovirus (außer Fieber nur in den letzten Tagen).

Antikörper gegen	Summe der positiven Seren	Fieber über 37,5°C im letzten Jahr: Summe	früher und letzte Tage	nur früher, einmal	nur früher, mehrmals	keine Angabe
Reovirus (bei 203 Pat. nachgeprüft)	45	18 41,8%	-	11	7	2

Tabelle 17: Vorkommen von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung bei Patienten mit komplementbindenden Antikörpern gegen Influenza A_2 Berlin 62 und Influenza A_2 Hongkong (außer Fieber nur in den letzten Tagen).

Antikörper gegen	Summe der positiven Seren	Fieber über 37,5°C im letzten Jahr				
		Summe	früher und letzte Tage	nur früher, einmal	nur früher, mehrmals	keine Angabe
Influenza A_2 Berlin 62 (bei 203 Pat. nachgeprüft)	202	77 39,7%	4	47	26	8
Influenza A_2 Hongkong (bei 212 Pat. nachgeprüft)	167	44 28,4%	2	27	15	12
Influenza A_2 Berlin 62 und A_2 Hongkong	369	121 34,7%	6	74	41	20

Tabelle 18 soll die Häufigkeit von Fieber bei den drei nach Anzahl positiver Befunde in ihrem Serum geordneten Patientengruppen verdeutlichen. Fieber ist bei den Patienten mit geringerer Anzahl serologischer Befunde ebenso häufig wie bei den anderen. Diese Ergebnisse sprechen nicht dafür, daß man das Vorhandensein von Antikörpern gegen eine größere Anzahl von Viren als Anzeichen für häufigere fieberhafte Erkrankung im Jahr vor der Erstuntersuchung ansehen könnte.

Tabelle 18: Beziehungen zwischen dem Vorkommen von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung und der Anzahl der bei der Komplementbindungsreaktion positiven Befunde pro Serum (außer Fieber nur in den letzten Tagen).

Anzahl positiver Befunde im Serum	Anzahl der patienten	Fieber über 37,5°C im letzten Jahr				
		Summe	früher und letzte Tage	nur früher, einmal	nur früher, mehrmals	keine Angabe
0 - 4	222	78 37,4%	4	41	33	13
5 - 6	119	37 32,8%	-	26	11	6
7 und mehr	74	27 38,1%	2	15	10	3
Alle Patienten	415	142 36,1%	6	82	54	22

Die Tabellen 19 - 21 sollen die Frage nach dem Schutz gegen Erkältungskrankheiten durch in der Vergangenheit stattgefundene Infektion mit den einzelnen Viren beantworten. Die Tabelle 20 bezieht sich auf Reovirus, Tabelle 21 auf Influenza A_2 Berlin 62 und Influenza A_2 Hongkong, Tabelle 19 auf die übrigen Antigene.

Erkältungskrankheiten kamen etwa gleich häufig bei allen Patienten mit Antikörpern gegen bestimmte Viren vor. Auch zu den Zahlen bei der Gesamtheit der Patienten ist keine Differenz erkennbar. Vorangegangene Infektionen, gleich mit welchem Virus, scheinen also keinen merklichen Schutz zu hinterlassen.

Tabelle 19: Häufigkeit von Erkältungskrankheiten bei Patienten mit komplementbindenden Antikörpern gegen die einzelnen Viren (außer Reovirus, Influenza A_2 Berlin 62 und Influenza A Hongkong).

Antikörper gegen	Anzahl der Patienten mit Antikörpern	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Erkältung bei 2.Untersuchung	keine Angabe
Influenza A lösl.	359	73 21,2%	56 16,3%	42 12,2%	15
Influenza B	197	41 21,5%	33 17,3%	15 7,9%	6
Influenza C	72	14 20,9%	14 20,9%	9 13,4%	5
Parainfluenza 1	132	31 24,6%	21 16,7%	18 14,3%	6
Parainfluenza 2	65	20 32,8%	12 19,7%	8 13,1%	4
Parainfluenza 3	161	35 22,7%	23 14,9%	9 5,8%	7
RS-Virus	113	26 23,9%	22 20,2%	11 10,1%	4
Adenovirus	221	51 24,1%	53 25,0%	30 14,2%	9
Mycoplasma pneumoniae	101	27 28,4%	18 19,0%	14 14,7%	6
Alle Patienten	415	88 22,1%	66 16,6%	45 11,3%	17

Tabelle 20: Häufigkeit von Erkältungskrankheiten bei Patienten mit komplementbindenden Antikörpern gegen Reovirus.

Antikörper gegen	Anzahl der Patienten mit Antikörpern	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Erkältung bei 2.Untersuchung	keine Angabe
Reovirus (bei 203 Pat. nachgeprüft)	45	9 20,4%	8 18,2%	1 2,3%	1

Tabelle 21: Häufigkeit von Erkältungskrankheiten bei Patienten mit komplementbindenden Antikörpern gegen Influenza A_2 Berlin 62 und Influenza A_2 Hongkong.

Antikörper gegen	Anzahl der Patienten mit Antikörpern	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Erkältung bei 2.Untersuchung	keine Angabe
Influenza A_2 Berlin 62 (bei 203 Pat. nachgeprüft)	202	38 19,6%	29 14,9%	9 4,6%	7
Influenza A_2 Hongkong (bei 212 Pat. nachgeprüft)	167	29 18,4%	34 21,5%	35 22,2%	9
Influenza A_2 Berlin 62 und A_2 Hongkong	369	67 19,0%	63 17,8%	44 12,5%	16

Die Tabelle 22 stellt die Häufigkeit von Erkältungskrankheiten bei den drei nach Anzahl positiver serologischer Befunde unterschiedenen Patientengruppen dar. Bei den Patienten, die Antikörper gegen 5 bis 6 und 7 und mehr Viren aufwiesen, scheinen Erkältungen bei der Erstuntersuchung und

im Intervall häufiger. Die statistische Auswertung ergab keine Signifikanz. Dieser Befund wäre auch unsinnig, weil zurückliegende Infekte zwar einen Schutz, aber keine erhöhte Anfälligkeit hinterlassen könnten. Die Häufigkeit von Erkältung bei der Nachuntersuchung unterscheidet sich bei den drei Gruppen nicht. Ein erhöhter Schutz dadurch, daß früher einmal in größerem Maße Infekte durchgemacht wurden, läßt sich also nicht nachweisen.

Tabelle 22: Häufigkeit von Erkältungskrankheiten bei den drei durch die Anzahl serologischer Befunde unterschiedenen Patientengruppen.

Anzahl der positiven Befunde im Serum	Anzahl der Patienten	Erkältung bei 1.Untersuchung	Erkältung im Intervall	Erkältung bei 2.Untersuchung	keine Angabe
0 - 4	222	41 19,2%	31 14,5%	26 12,2%	9
5 - 6	119	27 23,7%	20 17,5%	11 9,7%	5
7 und mehr	74	20 28,2%	15 21,1%	8 11,3%	3
Alle Patienten	415	88 22,1%	66 16,6%	45 11,3%	17

Tabelle 23 dient der Untersuchung der Frage, ob vorher einmal stattgefundene Infektionen, wenn sie mit einer größeren Anzahl von Viren erfolgt waren, einen gewissen Schutz vor Verschlechterung der relativen Sekundenkapazität hinterlassen. Das ist nach Tabelle 23 nicht der Fall, jedenfalls ist die Häufigkeit der Verschlechterung bei den Gruppen mit Antikörpern gegen 0 bis 4, 5 bis 6 und 7 und mehr Viren ohne wesentliche Unterschiede.

Tabelle 23: Häufigkeit der Veränderungen der relativen Sekundenkapazität bei den durch die Anzahl der positiven Befunde bei der Komplementbindungsreaktion sich unterscheidenden Patientengruppen.

positive Befunde im	Anzahl der Seren	Relative Sekundenkapazität					keine Angabe
		verschlechtert		gleich	gebessert		
		mehr als 19%	10-19%	± 10%	10-19%	mehr als 19%	
0 - 4	222	19 12%	34 22%	35 23%	38 25%	28 18%	68
5 - 6	119	11 11%	16 15%	32 30%	30 28%	17 16%	13
7 und mehr	74	5 7%	21 30%	13 18%	17 24%	15 21%	3
Alle Patienten	415	35 11%	71 21%	80 24%	85 26%	60 18%	84

VI Diskussion

Andere Autoren hatten die Möglichkeit, außer Routineseren noch spezielle im Anschluß an respiratorische Erkrankungen gewonnene zu untersuchen, so Murdoch u.a.(2), Jack und Gandevia (3), Carilli u.a.(5), Sommerville (6), Stark u.a. (7), Ross u.a.(8), Eadie u.a.(9), Stenhouse (12) und Fisher u.a.(14). Uns dagegen standen nur die zwei Routineseren zur Verfügung, weil die Patienten in der Zwischenzeit nicht erreichbar waren. Dadurch vergrößert sich die Unsicherheit der Zuordnung der nachgewiesenen Infektionen zu den anamnestisch angegebenen Erkrankungen. Als Erkältung wurden akute bronchitische Erkrankungen, Husten, Laryngitis und Schnupfen bezeichnet, weil es schwierig ist, aus der Anamnese Erkrankungen der oberen und tieferen Atemwege zu unterscheiden, besonders dann, wenn die Erkrankung längere Zeit zurückliegt und die Patienten sich nicht sehr genau erinnern können.

Zur Frage nach dem Vorkommen von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung ist zu vermerken, daß ihre Bejahung davon abhängt, ob der Patient die Temperatur gemessen hat und ob er sich daran erinnern kann. Die Unsicherheit anamnestischer Angaben ist hier nicht zu gering einzuschätzen.

Die Veränderungen der relativen Sekundenkapazität stellen Differenzen zweier in einem großen zeitlichen Abstand voneinander gemessener Werte dar. Wenn eine Differenz nicht vorlag, hätte man also eventuell zu irgendeinem Zeitpunkt des Intervalls sehr wohl eine Verschlechterung feststellen

können, wenn man dort eine Messung ausgeführt hätte. Jedoch erscheinen uns die Werte zur Beurteilung des Verlaufs einer chronischen Erkrankung brauchbar, weil sie immerhin einen Überblick über Veränderungen der bronchialen Situation im Intervall und damit Hinweise auf eine eventuelle Progression der Erkrankung durch Infekte geben; akute Episoden lassen sich jedoch dadurch nicht erfassen.

Jung und Wigand (1) haben die Häufigkeit hämagglutinationshemmender Antikörper gegen Adenoviren der Untergruppe II bei der Bevölkerung des Raumes, aus dem auch unsere Patienten stammen, untersucht. Zum Vergleich ihrer Resultate mit unseren dient Tabelle 24. Weitgehende Übereinstimmung besteht in den Altersklassen unter 40 Jahren. Bei den älteren Patienten haben wir ein nicht so häufiges Vorkommen der Antikörper gefunden. Der Unterschied läßt sich dadurch erklären, daß vorwiegend ältere Menschen mit Adenoviren der Untergruppe II infiziert werden und die Patienten der zweiten Gruppe von Jung und Wigand im Durchschnitt älter waren als unsere (persönliche Mitteilung).

Tabelle 24: Häufigkeit HA-hemmender Antikörper gegen Adenoviren der Untergruppe II. Vergleich der Ergebnisse von Jung und Wigand (1) mit unseren.

Typ	Jung u.a. 213 Pat. Alter: 21-40 Jahre und 0-3 Monate	Klaer: 81 Pat. Alter: bis 39 Jahre	Jung u.a. 150 Pat. Alter: über 40 Jahre	Klaer: 109 Pat. Alter: über 39 Jahre
8	10%	19%	28%	27%
9	33%	17%	47%	20%
10	17%	20%	52%	24%
13	21%	27%	46%	29%
15	11%	5%	6%	2%
17	24%	12%	38%	17%
19	16%	16%	42%	25%
22	7%	4%	19%	2%
23	19%	6%	48%	15%
24	7%	7%	21%	9%
26	30%	41%	57%	41%
27	28%	20%	53%	21%
29		32%		37%
30		4%		6%

Von den 415 Patienten, deren Serenpaare mit der Komplementbindungsreaktion untersucht wurden, zeigten 37 Titeranstiege. Von diesen gaben 16 (43,3%) Krankheitserscheinungen an, 21 (56,7%)dagegen nicht. Andererseits waren 42 (37,6%) der 378 Patienten ohne Titeranstieg ebenfalls erkrankt. Dieser Unterschied ist aber statistisch nicht signifikant. Die Krankheitserscheinungen sind daher sicher nur zum Teil

durch die ausgetesteten Erreger bedingt. Auch ist es wegen des großen Intervalls zwischen den beiden Blutentnahmen wahrscheinlich, daß einige dieser Infektionen inapparent verliefen und die Krankheit durch andere Erreger hervorgerufen wurde. So haben wir Rhino-, Entero- und Coronaviren, die ähnliche Erscheinungen machen können, bei unseren Untersuchungen nicht berücksichtigt. Auch werden durch die Komplementbindungsreaktion nicht alle Infektionen erfaßt, z.B. bei den Adenoviren, weswegen wir auch zusätzlich die HA-Hemmung auf Antikörper gegen die Typen der Untergruppe II durchführten. Es ist aber durchaus möglich, daß ein größeres Patientengut doch noch eine positive Aussage brächte.

Eine Verschlechterung der relativen Sekundenkapazität wurde bei sechs (16%) der 37 infizierten gegenüber 100 (26%) der 378 anderen Patienten festgestellt. Die statistische Überprüfung ergab keine Signifikanz. Eine Schlußfolgerung aus den vorliegenden Zahlen brächte auch ein unsinniges Ergebnis.

In Tabelle 25 vergleichen wir die Häufigkeit, mit der andere Autoren im Verlaufe respiratorischer Erkrankungen mit serologischen Methoden Infektionen festgestellt haben, mit unseren Ergebnissen. Wie die Tabelle zeigt, sind unsere Befunde durchaus mit denen von Ross u.a., Stenhouse und Fisher u.a. in Übereinstimmung, die eine ähnliche Anzahl von Antigenen wie wir benutzten. Obwohl diese Autoren speziell nach respiratorischen Episoden zusätzliche Seren

gewinnen konnten, ist ihr Anteil serologisch geklärter Erkrankungen nicht wesentlich höher als unserer. Carilli u.a. konnten dagegen einen wesentlich größeren Teil der Erkrankungen mit Infektionen in Zusammenhang bringen. Sie hatten ebenfalls zusätzliche nach respiratorischen Episoden entnommene Seren untersucht.

Tabelle 25: Vergleich unserer serologischen Befunde bei respiratorischen Erkrankungen mit denen anderer Autoren.

	Klaer	Murdoch u.a.(2)	Jack u. Gandevia (3)	Carilli u.a.(5)	Stark u.a.(7)
Anzahl respiratorischer Erkrankungen	158	5	32	46	253
Influenza A	7^{xo}	2	-	4	-
Influenza B	2	-	-	-	10
Influenza C	-	1	n.u.	-	n.u.
Parainfluenza 1	1^{+}	n.u.	n.u.	-	7
Parainfluenza 2	1	n.u.	n.u.	2	
Parainfluenza 3	4	n.u.	n.u.	-	
RS-Virus	2^{xo}	n.u.	n.u.	8	n.u.
Mycoplasma pneumoniae	-	n.u.	n.u.	4	n.u.
Adenovirus	2^{+}	-	-	2	n.u.
Q-Fieber	n.u.	n.u.	n.u.	2	n.u.
Psittakose	n.u.	n.u.	n.u.	1	n.u.
Von den Erkrankungen sind mit Infektion:	10%	(60%)	-	50%	7%

(Fortsetzung der Tabelle nächste Seite)

(Tabelle 25, Fortsetzung)

	Ross u.a.(8)	Eadie u.a.(9)	Moffat u.a.(10)	Sten-house (12)	Fisher u.a.(14)
Anzahl respiratorischer Erkrankungen	125	75	68	64	63
Influenza A	7	1	2[x]	4	3
Influenza B	2	-	1[x]	2	1
Influenza C	4	2	1	-	-
Parainfluenza 1	2	n.u.	-	-	1(Sendai)
Parainfluenza 2	n.u.	n.u.	-	-	n.u.
Parainfluenza 3	n.u.	n.u.	-	-	n.u.
RS-Virus	4	-	-	1	1
Mycoplasma pneumoniae	-	n.u.	n.u.	-	2
Adenovirus	1	-	-	-	-
Q-Fieber	-	n.u.	-	-	-
Psittakose	-	n.u.	-	1	-
Von den Erkrankungen sind mit Infektion:	16%	4%	4%	13%	13%

Anmerkung: +, x, o bedeuten: ein Patient zeigt jeweils einen Titeranstieg gegen die zwei so bezeichneten Antigene.

n.u.: nicht untersucht

Unsere Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von HA-hemmenden und komplementbindenden Antikörpern und der Häufigkeit von Fieber im Jahr vor der Erstuntersuchung ergaben, daß diese Antikörper bei Patienten, die Fieber hatten, nicht häufiger waren als bei den Patienten, die

keines angaben. Es ist dabei zu berücksichtigen, daß die komplementbindenden Antikörper über Jahre bestehen bleiben können und zum Teil nur langsam abfallen (Moffat u.a.(10), Ross u.a.(8). Die HA-hemmenden Antikörper persistieren länger als die komplementbindenden. Es wurden also noch Antikörper miterfaßt, die von Jahre zurückliegenden Erkrankungen stammten. Ein weiterer sicher nicht geringer Anteil der Antikörper stammt von inapparenten Infektionen. Ein Teil der Patienten wird außerdem wohl gegen Grippe geimpft worden sein. Trotzdem ist es nicht ausgeschlossen, an einem wesentlich größeren Patientenkollektiv einen Zusammenhang zwischen häufigerem Antikörpervorkommen und vorherigem Fieber festzustellen.

Einen Schutz gegen nachfolgende respiratorische Erkrankungen durch vorangegangene Infektionen konnten wir ebenfalls nicht nachweisen. Dabei ist zu beachten, daß die HA-hemmenden und komplementbindenden Antikörper keinen Schutz gegen Infektion gewähren, sondern daß diese Funktion den neutralisierenden Antikörpern zukommt. Immerhin kann man ein Vorhandensein komplementbindender und HA-hemmender Antikörper als Zeichen einer voraufgegangenen Infektion und damit auch Immunisierung des Organismus bewerten. Durch den Nachweis neutralisierender Antikörper, der allerdings mit sehr großem Aufwand an Material und Arbeit verbunden wäre, könnte man vielleicht doch noch einen solchen Schutz finden.

Einen Vergleich der von uns gefundenen Häufigkeit von komplementbindenden Antikörpern gegen die von uns benutzten Antigene mit den Angaben von Jack und Gandevia (3), Moss u.a.(19), Ross u.a.(8), Moffat u.a.(10) und Lambert (11) bringt Tabelle 26. Moss u.a.(19) haben in Liverpool serologische Untersuchungen mit RS-Virus ausgeführt. Wir benutzen ihre Angaben über die Antikörperhäufigkeit bei 29 männlichen Patienten. Die übrigen Autoren sind an anderer Stelle schon erwähnt. In dieser Tabelle sind die Differenzen zwischen den Angaben der Autoren zum Teil recht beträchtlich. Bei Jack u.a., Moss u.a. und Moffat u.a. sind die Patientenzahlen sehr klein; es handelt sich auch nur um Nebenbefunde, die Studien verfolgten andere Ziele. Soweit Unterschiede zwischen den Ergebnissen der anderen Autoren und uns bestehen, insbesondere bei den Antigenen Influenza C, Parainfluenza 2 und RS-Virus, läßt sich dies durch örtliche und zeitliche Unterschiede in der Verbreitung dieser Viren erklären. Allerdings ist zu beachten, daß serologische Ergebnisse verschiedener Laboratorien aus technischen Gründen nicht immer vergleichbar sind.

Tabelle 26: Vergleich der von uns gefundenen Häufigkeit komplementbindender Antikörper mit den Angaben anderer Autoren.

	Klaer	Jack u. Gandevia (3)	Moss u.a.(19)	Ross u.a.(8)	Moffat u.a. (10)	Lambert (11)
Titer mindestens	1:5	1:8	1:8	1:8	1:16	1:8
Anzahl der Seren	415	19	29	80	20	140
Influenza A	93%			78%	100%	
Influenza B	48%			63%	45%	
Influenza C	17%			83%	75%	
Parainfluenza 1	32%				35%	
Parainfluenza 2	17%				60%	
Parainfluenza 3	39%				45%	
RS-Virus	27%		69%	77%	60%	
Adenovirus	53%	53%		56%	70%	
Mycoplasma pneumoniae	24%					36%

Anmerkung: Ross u.a.(8) haben auf Antikörper gegen Adenovirus 54, gegen RS-Virus 26 Seren getestet.

VII. Zusammenfassung

415 Patienten mit chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung, die zu einem Heilverfahren verschickt wurden, haben wir serologisch untersucht, wobei vor und nach dem Heilverfahren je eine Blutprobe entnommen wurde. Es sollte damit der Frage nachgegangen werden, wieweit der Verlauf chronisch-obstruktiver Lungenerkrankungen durch Virusinfektionen beeinflußt wird.

In der Komplementbindungsreaktion wurden Antigene von Viren des Respirationstraktes, nämlich Influenza A lösl., Influenza A_2, B und C, Parainfluenza 1, 2 und 3, Respiratory Syncytial Virus, Adenovirus und Reovirus, und von Mycoplasma pneumoniae verwendet.

In der Hämagglutinationshemmung setzten wir Antigene aller 14 Typen der Untergruppe II der Adenoviren ein.

37 Patienten (8,9%) zeigten in der Komplementbindungsreaktion Titeranstiege mit einem oder mehreren Antigenen als Zeichen einer während der Kurzeit abgelaufenen Infektion. Eine Erkältungskrankheit in dieser Zeit oder bei der Erstuntersuchung oder eine fieberhafte Erkrankung kurz davor hatten diese Patienten kaum häufiger als die übrigen ohne nachgewiesene Titeranstiege (43,3% gegenüber 39,9%). Dieser Befund erklärt sich durch das Vorkommen inapparenter Infektionen einerseits und anderer serologisch nicht erfaßbarer Virusinfektionen andererseits. Nur ein einziger Patient zeigte bei Durchführung von über 2670 Tests einen Anstieg in der

Hämagglutinationshemmungsreaktion. Die nachgewiesenen Virusinfekte hatten insgesamt keinen verschlechternden Einfluß auf die relative Sekundenkapazität der Patienten.

Weiterhin wurde eine Analyse des Vorkommens (also nicht: der Titeranstiege) komplementbindender und hämagglutinationshemmender Antikörper im ersten Serum der Patienten mit folgenden Fragen vorgenommen:

a. Sind Patienten mit einer großen Zahl von Antikörpern im Jahr davor häufiger erkrankt als die übrigen?

b. Erkranken Patienten mit einer großen Zahl von Antikörpern in der Folgezeit weniger oft als die übrigen?

Beide Fragen - unter Einschluß der Veränderung der relativen Sekundenkapazität bei der zweiten Frage - wurden negativ beantwortet.

Den hier untersuchten Virusinfektionen scheint demnach keine wesentliche Bedeutung für den Verlauf chronisch-obstruktiver Lungenerkrankungen zuzukommen.

VIII. Schrifttumsverzeichnis

1. Jung, D. and Wigand, R.: Epidemiology of group II adenoviruses. Amer.J.Epidemiol. 85 (1967): 311-319

2. Murdoch, J.McC., Leckie, W.J.H., Downie, A.B., Swain, R.H.A., and Gould, J.C.: An evaluation of continous antibiotic therapy in chronic bronchitis. Brit.med.J. 2 (1959): 1277-1285

3. Jack, I. and Gandevia, B.: Virus studies in chronic bronchitis. Amer.Rev.Resp.Dis. 82 (1960): 482-484

4. Hennessy, A.V.: An attempt to demonstrate a viral etiology for chronic bronchitis. Amer.Rev.Resp.Dis. 86 (1962): 350-352

5. Carilli, R.D., Gohd, R.S., and Gordon, W.: A virologic study of chronic bronchitis. New Engl. J. Med. 270 (1964): 123-127

6. Sommerville, R.G.: Respiratory syncytial virus in acute exacerbations of chronic bronchitis. Lancet 2 (1963): 1247-1248

7. Stark, J.E., Heath, R.B. and Curwen, M.P.: Infection with influenza and parainfluenza viruses in chronic bronchitis. Thorax 20 (1965): 124-127

8. Ross, C.A.C., McMichael, S., Eadie, M.B., Lees, A.W., Murray, E.A. and Pinkerton, I.: Infective agents and chronic bronchitis. Thorax 21 (1966): 461-464

9. Eadie, M.B., Stott, E.J. and Grist, N.R.: Virological studies in chronic bronchitis. Brit.med.J. 2 (1966): 671-673

10. Moffat, M.A.J. and Sutherland, J.A.W.: Persistence of viral antibodies in patients with chronic bronchitis. Brit.med.J. 1 (1967): 601-603

11. Lambert, H.P.: Antibody to Mycoplasma pneumoniae in normal subjects and in patients with chronic bronchitis. J.Hyg. 66 (1968): 185-189

12. Stenhouse, A.C.: Viral antibody levels and clinical status in acute exacerbations of chronic bronchitis: a controlled prospective study. Brit.med.J. 3 (1968): 287-290

13. Stenhouse, A.C.: Rhinovirus infection in acute exacerbations of chronic bronchitis: a controlled prospective study. Brit.med.J. 3 (1967): 461-463

14. Fisher, M., Akhtar, A.J., Calder, M.A., Moffat, M.A.J., Stewart, S.M., Zealley, H. and Crofton, J.W.: Pilot study of factors associated with exacerbations in chronic bronchitis. Brit.med.J. 4 (1969): 187-192

15. Rosen, L.: Hemagglutination-inhibition antibody responses in human adenovirus infections. Proc.Soc.Exper. Biol. 108 (1961): 474-477

16. Kasel, J.A., Knight, V., and Alling, D.W.: Heterotypic antibody responses in volunteers inoculated with adenovirus types 26 and 27. J.Immunol. 92 (1964): 934-940

17. Wigand, R.: Erfahrungen mit der Mikromethode der Komplementbindungsreaktion. Z.Hyg. 143 (1956): 188-191

18. Mayer, M.M., Osler, A.G., Bier, O.G. and Heidelberger, M.: The activating effect of magnesium and other cations on the hemolytic function of complement. J.Exper.Med. 84 (1946): 535-538

19. Moss, P.D., Adams, M.O., Tobin, J.O'H.: Serological studies with respiratory syncytial virus. Lancet 1 (1963): 298-300

Ich möchte meinen herzlichen Dank aussprechen:

Herrn Prof. Dr.med. R. Wigand für die Überlassung des Themas und die hilfreiche Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit,

Herrn Prof. Dr.med. F. Trendelenburg und Frau Dr.med. B. Reinert für die entgegenkommende Überlassung der Seren und der klinischen Erhebungen,

Fräulein D. Kunze und Frau I. Maurer für die freundliche Hilfe bei der Bereitstellung von Virusvorräten und Reagenzien für die virologischen Untersuchungen,

Fräulein R. Rothhaar für ihre durch Ausführung der Lochkarten geleistete Hilfe.

Lebenslauf

Am 28. Februar 1945 wurde ich in Schierke im Harz als Sohn des Diplomingenieurs Eberhard Klaer und seiner Ehefrau Maria geb. Gottschalk geboren. Von 1951 bis 1955 besuchte ich die Volksschule in Saarbrücken, ab 1955 das Staatliche Ludwigsgymnasium in Saarbrücken. Dort legte ich am 20. Februar 1964 die Reifeprüfung ab. Vom Sommersemester 1964 an studierte ich Medizin an der Universität des Saarlandes. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich am 5. März 1965, die ärztliche Vorprüfung am 25. Oktober 1966, die ärztliche Prüfung am 16. Dezember 1969.